

PC/PT04/25

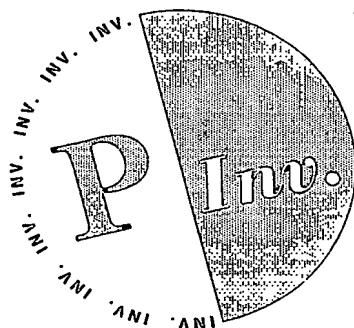
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

**CERTIFICADO DE PEDIDO
DE PATENTE DE INVENÇÃO**

Certifica-se que os documentos em anexo estão conforme o original do pedido de patente de invenção n.º 103035.

O pedido foi apresentado no INPI no dia 29 de Outubro de 2003.

Instituto Nacional da Propriedade Industrial, 29 de Outubro de 2004



*Pelo Presidente do Conselho de Administração
do Instituto Nacional da Propriedade Industrial*

**PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)**



**INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL**

Campo das Cebolas - 1149-035 LISBOA - Portugal
Tel.: +351 21 881 81 00 - Linha Azul: 808 20 06 89
Fax: +351 21 888 00 66 - +351 21 887 53 08
E-mail: inpi@mail.telepac.pt

Patente de Invenção Nº 103035

Data do Pedido: 2003.10.29

Requerente(s):

UNIVERSIDADE DO MINHO
LG DO PAÇO, 4700-320 BRAGA PT

Inventor(es):

ARTUR MANUEL CAVACO PAULO PT
ANA FILIPA GONÇALVES DA COSTA CARNEIRO PT
CARLA MANUELA PEREIRA DA SILVA PT
RITA ISABEL LIMA DE ARAÚJO PT
GEORGE GUEBITZ AT
MARGARIDA PAULA PEDRA AMORIM CASAL PT
MARIA TERESA GONÇALVES DE MACEDO MATAMÁ PT

Epígrafe ou Título:

METODO PARA MODIFICAÇÃO DAS FIBRAS DE POLIACRILONITRILO COM ACETATO DE VINILO COMO COMONÓMERO E DE POLIAMIDA, UTILIZANDO UMA ENZIMA CUTINASE

Reivindicação de Prioridade (Convenção de Paris)

Nº Pedido	Data de Pedido	País de origem

RESUMO

"MÉTODO PARA MODIFICAÇÃO DAS FIBRAS DE POLIACRILONITRILLO
COM ACETATO DE VINILO COMO COMONÓMERO E DE POLIAMIDA,
UTILIZANDO UMA ENZIMA CUTINASE"

Esta invenção relata um novo processo enzimático para modificação da superfície das fibras sintéticas, utilizando uma enzima cutinase (3.1.1.74). A acção enzimática provoca a hidrólise das fibras de poliacrilonitrilo com acetato de vinilo como comonómero e de poliamida, melhorando as suas características hidrofílicas e propriedades tintoriais.

DESCRIÇÃO

"MÉTODO PARA MODIFICAÇÃO DAS FIBRAS DE POLIACRILONITRILO
COM ACETATO DE VINILO COMO COMONÓMERO E DE POLIAMIDA,
UTILIZANDO UMA ENZIMA CUTINASE"

Campo da Invenção

A qualidade e as propriedades de processamento dos filamentos na linha de extrusão, fibras, fios e tecidos têxteis podem ser melhoradas modificando a sua superfície. Os processos tradicionais usados para a sua modificação requerem agentes químicos com efeitos negativos para o ambiente. Estes podem ser evitados aplicando novas técnicas de processamento baseadas em biotecnologia.

Os processos enzimáticos podem ser utilizados para modificar a superfície dos tecidos constituídos por fibras sintéticas. A hidrólise das fibras de poliacrilonitrilo com acetato de vinilo como comonómero e de poliamida tem como consequência a formação de grupos hidrofílicos. O aumento destes grupos à superfície das fibras confere características hidrofílicas, melhorando assim as propriedades de conforto. Este tratamento permite também que as referidas fibras sejam tingidas com corantes reactivos específicos.

Antecedentes da Invenção

A cutinase 3.1.1.74 é uma esterase que degrada a cutina, um componente polimérico estrutural das plantas constituído por ácidos gordos (Carvalho et al. Biotech. Bioeng., 1999, 66, 17-34). Esta é uma enzima pouco específica, que hidroliza ésteres p-nitrofenil e triglicerídeos solúveis e insolúveis.

Existem várias patentes sobre melhoramento genético de cutinases de *Fusarium solani* e a sua aplicação em formulação de detergentes para máquinas de lavar roupa e louça. Estes produtos mostraram ter uma maior acção lipolítica que outros anteriormente utilizados (IN183592, EP1290150, AU1503800, AU5488090, US5512203, WO9414964, GB2296011, WO8809367, EP0399681). No campo têxtil existe ainda a descrição da utilização de cutinases para diminuir o "backstaining" durante processos "stone-wash" em tecidos de Denim de algodão (CA2413838, US2002066144). A cutinase é ainda descrita como capaz de degradar poliésteres alifáticos e aromáticos (US6255451).

A cutinase é uma esterase que partilha a tríade catalítica de serina-histidina-ácido aspártico com outras esterases e amidases, sendo portanto teoricamente possível a degradação de amidas além de grupos éster. Estudos recentes mostram que a cutinase tem uma actividade em meios mais hidrofóbicos devido aos aminoácidos exteriores da estrutura 3D (Vidinha et al. (2003) "Effect of immobilization sup-

port, water activity and enzyme ionization state on cutinase activity and enantioselectivity in organic media", *Biotech. Bioeng.*, accepted).

Os agentes químicos de modificação de fibras descritos na generalidade não restringem a sua acção à superfície das fibras, mas penetram no seu interior degradando as fibras com deterioração das suas propriedades. Um dos tratamentos que era normalmente realizado para o melhoramento do toque e aumento de hidrofiliabilidade das fibras sintéticas, era o tratamento alcalino, efectuado com elevadas concentrações de soda cáustica. Esses tratamentos tornavam-se prejudiciais, não só para o comportamento físico das fibras, mas também para o meio ambiente onde os resíduos deste produto eram depositados (US20030119172).

Vários métodos químicos têm sido utilizados, no sentido de melhorar a estrutura da fibra de poliamida. A modificação desta fibra, segundo o método descrito pela patente GB1072070, é efectuada a acilação dos grupos peptídicos assim como os grupos amino terminais da poliamida para maior reactividade da poliamida. Outro método já descrito na patente US5599698, especifica o tratamento da fibra de poliácridonitrilo com acetato de vinilo como comonomero com uma enzima nitril hidratase, de modo a modificar a hidrofiliabilidade e consequentemente as suas propriedades de conforto, permitindo também que as fibras de poliácridonitrilo com acetato de vinilo como comonomero e sejam tingidas com corantes ácidos.

Descrição Detalhada da Invenção

A presente invenção descreve o uso da cutinase para modificar a superfície das fibras sintéticas de poliacrilonitrilo com acetato de vinilo como comonómero e de poliamida. A hidrólise superficial dos grupos éster e amida das fibras de poliacrilonitrilo com acetato de vinilo como comonómero e de poliamida, respectivamente, tem como consequência a formação de grupos hidroxilo na fibra de poliacrilonitrilo com acetato de vinilo como comonómero e grupos carboxílicos e amino na poliamida. O aumento destes grupos à superfície das fibras confere ao tecido características hidrofílicas, melhorando assim as propriedades de conforto. Este tratamento permite também que a fibra de poliacrilonitrilo com acetato de vinilo como comonómero e seja tingida com corantes reactivos (usados para algodão) e a fibra de poliamida com corantes reactivos (usados para a lã). Até ao momento não foi descrita na literatura científica ou em patentes nenhum método de modificação do comonómero acetato de vinilo da acrílica ou do poliamida.

Um primeiro modelo de realização da invenção consiste num método de tratamento da fibra de poliacrilonitrilo com acetato de vinilo como comonómero, que compreende o contacto da fibra com uma solução de enzima, de forma a modificar a superfície química da fibra, aumentando o número de grupos hidroxilo hidrofílicos.

Um segundo modelo de realização da invenção consiste num método tratamento da fibra de poliamida, que compreende o contacto da fibra com uma solução de enzima, de forma a modificar a superfície química da fibra, aumentando o número de grupos amino hidrofílicos.

De preferência o tratamento da fibra de poliacrilonitrilo com acetato de vinilo como comonómero ou da fibra de poliamida é realizado utilizando uma enzima com acção esterase.

Preferivelmente a enzima contém a tríade catalítica serina-histidina-ácido aspártico.

A enzima esterase atrás referida é, preferencialmente, uma hidrolase que degrada a cutina.

A quantidade de enzima utilizada situa-se, normalmente, entre 1 e 400 g de proteína por kg de fibra.

Em qualquer dos modelos de realização anteriormente referidos é utilizado um banho de tratamento com enzima recuperável e reutilizável.

Exemplos

O método consiste na modificação química da superfície das fibras de poliacrilonitrilo com acetato de vinilo como comonómero (constituída por cerca de 93% de acrilonitrilo e 7% de acetato de vinilo) e de poliamida a-

través da acção de uma solução de cutinase obtida a partir da expressão heteróloga da cutinase de *Fusarium solani* *pisi*, pela estirpe de *Escherichia coli* DHB4 transformada.

O tratamento foi efectuado numa máquina ROTAWASH simuladora de tingimentos e outros tratamentos têxteis. Cada recipiente continha entre 1 e 2U ($\mu\text{mol}/\text{min}$ como pNPP - paranitrofenolpalmitato) de actividade de cutinase.

Exemplo 1:

Modificação enzimática de fibra de poliacrilonitrilo com acetato de vinilo como comonómero

Amostras de tecido de poliacrilonitrilo com acetato de vinilo como comonómero com 0,7 gramas foram lavadas com água contendo 1 g/L de Lutensol e secas a 50°C. Foram depois colocadas num copo contendo 1 U de cutinase, numa relação de banho de 1:35 (p/v). O tratamento decorreu a pH 7,5 e a 30°C, por um período de tempo de 700 horas. As amostras foram removidas da solução, lavadas com água contendo 2 g/L de Na_2CO_3 e secas à temperatura ambiente.

A verificação da hidrólise foi efectuada através da formação de ácido acético e do tingimento das amostras tratadas. Nos banhos de tratamento não foi detectada a presença de ácido acético. As amostras foram tingidas com 2% de corante reactivo remazol azul brilhante, usando uma relação de banho de 1:50 (p/v), a 70°C. Nas amostras tratadas

durante 700 horas com a solução enzimática de cutinase, o valor de K/S (coeficiente espectral) aumentou, em média, 30% em relação à amostra não tratada.

Exemplo 2:

Modificação enzimática de fibra de poliamida

Foram efectuados tratamentos similares em tecido de poliamida usando-se os seguintes parâmetros: amostras de 1 g tecido foram lavadas com água contendo 1 g/L de Luten-sol e secas a 40°C. Foram depois colocadas num copo próprio da máquina ROTAWASH contendo 2 U de cutinase, numa relação de banho de 1:200 (p/v). O tratamento ocorreu a pH 8,5 e a 30°C, por um período de tempo de 97 horas. As amostras foram removidas da solução, lavadas com água contendo 2 g/L de Na₂CO₃ e secas a 40°C. A hidrólise ocorrida nas amostras tratadas com a solução enzimática foi verificada através do tingimento com corante reactivo. As amostras tratadas durante 97 horas foram tingidas com 2% de corante reactivo (Lanasol red 66), obtido da CIBA, usando uma relação de banho de 1:100, a 60 °C. Nas amostras tratadas o valor de K/S (coeficiente espectral) aumentou em relação à amostra não tratada, 11,67% (60°C).

Lisboa, 27 de Novembro de 2003

REIVINDICAÇÕES

1. Método de tratamento da fibra de poliacrilonitrilo com acetato de vinilo como comonómero, caracterizado por compreender o contacto da fibra com uma solução de enzima, de forma a modificar a superfície química da fibra, aumentando o número de grupos hidroxilo hidrofílicos.
2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por compreender o tratamento da fibra de poliacrilonitrilo com acetato de vinilo como comonómero com uma enzima com acção esterase.
3. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a enzima conter a tríade catalítica serina-histidina-ácido aspártico.
4. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por a enzima esterase ser uma hidrolase que degrada a cutina.
5. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por se utilizar uma quantidade de enzima entre 1 e 400 g de proteína por kg de fibra.
6. Método de tratamento da fibra de poliamida, caracterizado por compreender o contacto da fibra com uma solução de enzima, de forma a modificar a superfície quími-

ca da fibra, aumentando o número de grupos amino hidrofílicos.

7. Método de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por compreender o tratamento da fibra de poliamida com uma enzima com acção esterase.

8. Método de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por a enzima conter a tríade catalítica serina-histidina-ácido aspártico.

9. Método de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por a enzima esterase ser uma hidrolase que degrada a cutina.

10. Método de acordo com a reivindicação 6, caracterizado por se utilizar uma quantidade de enzima entre 1 e 400 g de proteína por kg de fibra.

11. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 e 6, caracterizado por utilizar um banho de tratamento com enzima recuperável e reutilizável.

Lisboa, 27 de Novembro de 2003

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ BLACK BORDERS

☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

☒ FADED TEXT OR DRAWING

☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

☐ SKEWED/SLANTED IMAGES

☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

☐ GRAY SCALE DOCUMENTS

☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

☒ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.